

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2002-532431

(P2002-532431A)

(43) 公表日 平成14年10月2日 (2002.10.2)

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	ページ* (参考)
A 6 1 K 31/727		A 6 1 K 31/727	4 C 0 8 6
A 6 1 P 25/28		A 6 1 P 25/28	4 C 0 9 0
43/00	1 0 5	43/00	1 0 5
// C 0 8 B 37/10		C 0 8 B 37/10	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 19 頁)

(21) 出願番号	特願2000-587782(P2000-587782)
(86) (22) 出願日	平成11年12月13日 (1999.12.13)
(85) 翻訳文提出日	平成13年6月13日 (2001.6.13)
(86) 国際出願番号	P C T / F R 9 9 / 0 3 1 0 9
(87) 国際公開番号	W O 0 0 / 3 5 4 6 2
(87) 国際公開日	平成12年6月22日 (2000.6.22)
(31) 優先権主張番号	9 8 / 1 5 9 1 9
(32) 優先日	平成10年12月17日 (1998.12.17)
(33) 優先権主張国	フランス (F R)

(71) 出願人	アベンテイス・ファルマ・ソシエテ・アノ ニム フランス・エフ-92160アントニイ・アベ ニユーレイモンドアロン20
(72) 発明者	シユトウツマン, ジヤン-マリー フランス・エフ-94440ビルクレスヌ・リ ユドラルシユ9
(72) 発明者	ウザン, アンドレ フランス・エフ-75116パリ・アベニユー ピクトルユゴ-35
(74) 代理人	弁理士 小田島 平吉

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 低分子量ヘパリンの新規な治療的応用

(57) 【要約】

本発明は、運動ニューロン疾患を予防および/または処
置するための低分子量ヘパリンの使用に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 運動ニューロンの生存および／または成長に有用である医薬品を調製するための低分子量ヘパリンの使用。

【請求項2】 運動ニューロン疾患を予防および／または処置するための医薬品を調製するための低分子量ヘパリンの使用。

【請求項3】 筋萎縮性側索硬化症、進行性脊髄性筋萎縮症、小児筋萎縮症および外側硬化症を予防および／または処置するための請求項2に記載の使用。

【請求項4】 低分子量ヘパリンが1 000から10 000ダルトンの間の平均分子量を有する請求項1ないし3のいずれか1項に記載の使用。

【請求項5】 低分子量ヘパリンが1 500から6 000ダルトンの間の平均分子量を有する請求項1ないし3のいずれか1項に記載の使用。

【請求項6】 低分子量ヘパリンが4 000から5 000ダルトンの間の平均分子量を有する請求項1ないし3のいずれか1項に記載の使用。

【請求項7】 低分子量ヘパリンがそれら1末端に2-O-スルホ-4-エノピラノスロン酸を有するオリゴ糖から成る、請求項1ないし6のいずれか1項に記載の使用。

【請求項8】 低分子量ヘパリンが、塩基を使用したヘパリンエステルの解重合により得られる、請求項1ないし7のいずれか1項に記載の使用。

【請求項9】 低分子量ヘパリンがエノキサパリン(INN)である、請求項1ないし8のいずれか1項に記載の使用。

【請求項10】 低分子量ヘパリンがナドロパリン(INN)である、請求項1ないし6のいずれか1項に記載の使用。

【請求項11】 低分子量ヘパリンがパルナパリン(INN)である、請求項1ないし6のいずれか1項に記載の使用。

【請求項12】 低分子量ヘパリンがレビパリン(INN)である、請求項1ないし6のいずれか1項に記載の使用。

【請求項13】 低分子量ヘパリンがダルテパリン(INN)である、請求項1ないし7のいずれか1項に記載の使用。

【請求項14】 低分子量ヘパリンがチンザパリン(INN)である、請求項1

ないし6のいずれか1項に記載の使用。

【請求項15】 低分子量ヘパリンがダナパロイド(INN)である、請求項1ないし6のいずれか1項に記載の使用。

【請求項16】 低分子量ヘパリンがアルデパリン(INN)である、請求項1ないし6のいずれか1項に記載の使用。

【請求項17】 低分子量ヘパリンがセルトパリン(INN)である、請求項1ないし6のいずれか1項に記載の使用。

【請求項18】 低分子量ヘパリンがCY222である、請求項1ないし6のいずれか1項に記載の使用。

【請求項19】 低分子量ヘパリンがSR90107/ORG31540である、請求項1ないし6のいずれか1項に記載の使用。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

(技術分野)

本発明は、運動ニューロン疾患の予防および／または処置における低分子量ヘパリンの使用に関する。

【0002】

標準的なヘパリンは、ウシ、ヒツジおよびブタの腸粘膜から単離された12 000－15 000ダルトンの平均分子量を持つ硫酸化多糖である。ヘパリンは血栓塞栓性障害の予防および処置に臨床的に使用されるが、時折、出血を引き起こす。

【0003】

過去10数年間、ヘパリンは出血を引き起こす欠点をもはや現さないか、または現す出血の程度が低く、しかも標準的なヘパリンが1日に2～3回の注入が必要であるのに代わり、今では1日に1回の注入を必要とするだけの低分子量ヘパリンに段々と置き換えられてきた。このような低分子量ヘパリンは、特にヘパリンの分画または制御された解重合により、あるいは化学合成により製造される。それらは2より大きい抗-Xa活性／抗-IIa活性の比率を有する。

【0004】

ここで今、低分子量ヘパリンが運動ニューロンの生存および／または成長を増進し、こうして運動ニューロン疾患の予防および／または処置に使用できることが分かった。

【0005】

運動ニューロン疾患は、筋萎縮性側索硬化症、進行性脊髄性筋萎縮症、小児筋萎縮症および原発性側索硬化症を含む。

【0006】

本発明によれば、1 000から10 000ダルトンの間、特に1 500から6 000ダルトンの間、そして特別には4 000から5 000ダルトンの間の平均分子量を有する低分子量ヘパリンが使用される。

【0007】

それらは種々の方法を使用してヘパリンから調製することができる：

ー溶媒を使用した分画（仏国特許第2440376号明細書、米国特許第4692435号明細書）、

ーアニオン性樹脂上での分画（仏国特許第2453875号明細書）、

ーゲル濾過（Barrowcliffe, Thromb. Res. 12. 27-36(1977)）、

ーアフニティクロマトグラフィー（米国特許4401758第号明細書）

ー化学薬剤：亜硝酸（欧州特許第14184号、同第37319号、同第76279号、同第623639号明細書、仏国特許第2503714号明細書、米国特許第4804652号明細書、国際特許第813276号明細書）、ヘパリンエステルを使用した β -脱離（欧州特許第40144号明細書、米国特許第5389618号明細書）、過ヨウ素酸塩（欧州特許第287477号明細書）、硼水素化ナトリウム（欧州特許第347588号、同第380943号明細書）、アスコルビン酸（米国特許第45335439号明細書）；過酸化水素（米国特許第4629699号、同第4791195明細書）、ヘパリンの4級アンモニウム塩を使用した過酸化4級アンモニウム（米国特許第4981955号明細書）、アルカリ金属水酸化物（欧州特許第380943号、同第347588号明細書）の使用、あるいは酵素的方法によるか（欧州特許第64452号明細書、米国特許第4396762号明細書、欧州特許第244235号、同第244236号明細書；米国特許第4826827号；同第3766167号明細書）、あるいは照射を使用する（欧州特許第269981号明細書）制御された解重合。

【0008】

化学合成により調製できるものもある（米国特許第4801583号、同第4818816明細書、欧州特許第165134号、同第84999号明細書、仏国特許第2535306号明細書）。

【0009】

これらの低分子量ヘパリンの中でも、ローン-プーラン ロレ（Rhone-Poulenc Rorer）から販売されているエノキサパリン（enoxaparin）(INN)、サノフィ（Sanofi）から販売されているナドロパリン（nadroparin）(INN)、オボクリン-アルファ（Opocrine-alfa）から販売されているパルナパリン（parnaparin）(INN)、クノール（Knoll）から販売されているレビパリン（reviparin）(INN)、カビファルマシア（Kabi Pharmacia）から販売されているダルテパリン（dalteparin）(INN)、ノボ ノルディスク（Novo Nordisk）から販売されているチンザパリン（t

inzaparin) (INN)、オルガノンから販売されているダナパロイド(danaparoid) (INN)、ウィース アイアースト (Wyeth Ayerst) により開発されたアルデパリン(ardeparin) (INN)、サンドスにより販売されているセルトパリン(certoparin)、およびサノフィー-チョイ (Sanofi-Choay) からのCYV222 (Thromb. Haemostasis, 58(1).553(1987)) またはサノフィー-オルガノン (Sanofi-Organon) からのSR90107/ORG 31540 (Thrombosis and Haemostasis, 74.1468-1473(1995)) のような研究中の製品を特に挙げることができる。

【0010】

好ましくは低分子量ヘパリンは2-O-スルホ-4-エノピラノスロン酸をそれらの1つの末端に有するオリゴ多糖から成る。

【0011】

特に有利な低分子量ヘパリンは、水酸化ナトリウムのような塩基を使用してヘパリンエステル、特にベンジルエステルの解重合により得られる。

【0012】

神経栄養因子であるBDNFまたはNT5により提供される栄養的支援の存在下で、運動ニューロン培養物は長く分枝した神経突起を有する大きな、しかも均質なニューロンから成る。しかし運動ニューロンは培養が栄養的支援無しに行われると、アポトーシスにより死亡する。

【0013】

したがって低分子量ヘパリンの効果は、神経栄養因子の培養物中で運動ニューロンを飢餓状態にする (starving) ことにより誘導される変性モデルで測定した。

【0014】

さらに星状細胞は運動ニューロンの生存に適する環境の制御および維持に主要な役割を果たす。

【0015】

したがって、低分子量ヘパリンの効果は運動ニューロンおよび星状細胞との共存培養下でも試験した。

【0016】

以下のプロトコールを採用した：

運動ニューロンの濃度が高い培養：

運動ニューロンの濃度が高い培養は、R. L. Schnaar and A. E. Schaffer, *J. Neurosci.*, 1, 204-217 (1981) により記載され、そして W. Camu and C. E. Henderson, *J. Neurosci. Methods*, 44, 59-70 (1992) により変更された遠心法を使用して調製する。E15 ラットの胚に由来する脊髄を、無菌的に切開し、そして脊髄脊索を取り出す。次にそれらを切断し、そして37℃で15分間、0.05%のトリプシンを加えたPBS（リン酸緩衝化生理食塩水：137mM NaCl、2.68mM KCl、6.45mM Na₂HPO₄、1.47mM KH₂PO₄）中でインキューベーションする。細胞の解離は、ウシ血清アルブミン（BSA）およびDNAaseを補充した培養基中で1mlピペットの末端を用いたトリチュレートにより完結する。細胞懸濁液をL15培地（Gibco BRLにより販売されている）中の6.5重量／容量%のメトリザミドのバンド上に広げ、そして500gで15分間遠心する。運動ニューロンを含む界面のバンドを取り出す。運動ニューロンは、重炭酸ナトリウム（22mM）、コアルブミン（0.1mg/ml）、ブトレッシン（0.1mM）、インスリン（5 μg/ml）、亜セレン酸ナトリウム（31nM）、グルコース（20mM）、プロゲステロン（21nM）、ペニシリン（100IU/ml）およびストレプトマイシン（100 μg/ml）が加えられたL15培地中、前以てポリオルニチン-ラミニンをコートした培養皿35mm中あたり5000細胞の密度で接種した。次いで培養物は37℃で5%CO₂において給湿された雰囲気中で維持する。

脊髄星状細胞の培養：

星状細胞は、わずかに変更したR. P. SanetoおよびJ. de Vellisの神経化学、実践的方法（*Neurochemistry a practical approach*）（A. J. Turner and H. S. St John）IRL出版、オックスフォード・ワシントンDC、第27～63頁に記載されている方法に従い、ラットの胚から得る。脊髄を無菌的に切断し、そして髄膜および脊髄神経節を除く。5から10個の脊髄をPBS（リン酸緩衝化生理食塩水：137mM NaCl、2.68mM KCl、6.45mM NaHPO₄、1.47mM KH₂PO₄）に移し、そして切断した後にPBS中（これには0.25%トリプシンが加えられていた）で37℃にて25分間インキューベーションする。酵素処理は10mlのダルベッコ改良イーグル培地（DMEM）（これには10%のウシ胎児血清（FCS）が加えられていた）を加えることにより停止させ、

そして細胞を遠心により集める。別の機械的解離工程は、1mlのピペットの末端を使用して行う。細胞は 25cm^2 の培養基あたり $1.2 \sim 2 \times 10^6$ 細胞の密度で、10%のFCSを含有するDMEM中に接種する。インビトロで2日後、培養物には実験期間中、毎日養分を与える(fed)。目に見える細胞の単層が得られた時、培養物を48時間、250rpmで振盪し、そして翌日、単層をシトシン アラビノシド(10^{-5}M)で48時間処理する。星状細胞の単層は次いで、実験の開始に 25cm^2 の培養フラスコ用の35mmの培養プレート上に5の密度で増幅させる。

【0017】

脊髄の星状細胞培養物は98%より多くが、グリア細胞繊維性酸性タンパク質(GFAP)に免疫反応性である細胞から成る。星状細胞の単層を、水溶液の状態の試験すべき生成物に、示した濃度で24時間、暴露する。次に星状細胞の単層をDMEMで洗浄し、そして運動ニューロンが加えられた培養基を用いて2時間維持する。供給から2時間後、および2または3日後、賦形剤または試験すべき生成物を再度、培養基に加える。

免疫化学

細胞は、PBS (4℃でpH 7.4、5分)中の4%パラホルムアルデヒドおよび0.1%グルタルアルデヒドで固定する。次に培養物を洗浄し、そして非特異的部位を10%ヤギ血清および2%ウシ血清アルブミン(BSA)(PBS中)でブロックする。このような培養物を続いてIslet 1/2転写因子抗体と4℃にて一晩、そしてストレプトアビジン-ペルオキシダーゼ抗体(1/200、キブコ(Gibco))と60分間、インキュベーションする。抗体は、DAB/過酸化水素反応を使用して可視化する。抗神経フィラメント抗体(LC アマーシャム:Amersham)を使用して神経突起を同定する。

【0018】

細胞の計数および統計的分析

アイレット(Islet)1/2 ホモプロテインまたは神経フィラメントに免疫反応性であり、そして10細胞の直径よりも長い神経突起を示す細胞は、生きている運動ニューロンであると考えられる。運動ニューロンの数は、200倍に拡大した顕微鏡下で 1.44cm^2 の表面積中の標識細胞を計数することにより評価する。これらの

値は栄養的因子 (BDNF/NT5 1ng/mg) を使用して維持した培養物中に存在する² cm²あたりの運動ニューロンの数、または運動ニューロンの数の割合として表す。実験は少なくとも3回行う。

【0019】

統計的分析は、スチューデント試験 (t 試験) を使用して行う。

【0020】

アッセイはエノキサパリンを低分子量ヘパリンとして使用して行う。

【0021】

得られた結果は以下の通りである：

【0022】

【表1】

1-星状細胞+運動ニューロン共存培養物における運動ニューロンの数に及ぼす種々の濃度エノキサパリンの効果

	対照に対する運動ニューロンの数%±標準偏差
賦形剤	100 ± 21
エノキサパリン(Enoxaparin)	
1 ng	118 ± 33
10 ng	196 ± 47 (P < 0.05)
50 ng	149 ± 22

【0023】

これらの結果は、エノキサパリンで星状細胞を前処理すると、星状細胞の単層上で成長する運動ニューロンの数が増すことを示す。

【0024】

この試験では、エノキサパリン(enoxaparin)は外観上の形態学上の効果を誘導しない。

【0025】

【表2】

2-星状細胞-運動ニューロン共存培養物における運動ニューロンの生存に及ぼす効果

	対照に対する運動ニューロンの生存% ± 標準偏差
賦形剤	99.9 ± 5.1
エノキサパリン(Enoxaparin)	
1 ng/ml	109.3 ± 16.9
10 ng/ml	120.7 ± 3.2 (P = 0.0066)

【0026】

これらの結果は、エノキサパリンが運動ニューロンの生存を上昇させることを示す。

【0027】

【表3】

3-大変大きい運動ニューロンの数に及ぼす効果

	cm ³ あたりの大きい運動ニューロン(500 μm)の数
賦形剤	38
エノキサパリン(Enoxaparin)	
1 ng/ml	48
10 ng/ml	66

【0028】

これらの結果は、エノキサパリンが対照と比べて大きな運動ニューロンの数を増すことを示す。

4-栄養的(trophic)運動ニューロン活性の刺激に及ぼす強化効果

星状細胞の単層は亜致死性濃度のフリーラジカルに対する暴露により誘導されるストレスに反応し、そして運動ニューロンの栄養的活性の生産を増す。特に、SIN-1により形成される低濃度(200マイクロモル/分)のペルオキシニトリットの流出は、いったん刺激が終わっても星状細胞の単層の栄養的活性をかなり刺激す

る。それゆえにエノキサパリンがこの効果に及ぼす効果を実験した。

【0029】

星状細胞の単層を賦形剤またはエノキサパリン (10ng/ml) で処理し、そして2mM SIN-1 (窒素を含有する培地) で1時間処理する。洗浄後、運動ニューロンをL15培地に接種する。2時間後、賦形剤またはエノキサパリンをもう一度培養基に加える。

【0030】

【表4】

	対照に対する運動ニューロンの数%
賦形剤	100
SIN-1 (2 mM)	125
エノキサパリン(Enoxaparin)(10 ng/ml)	115
エノキサパリン(Enoxaparin)(10 ng/ml)+ SIN-1 (2 mM)	160

【0031】

これらの結果は、エノキサパリンおよびSIN-1が星状細胞の栄養的能力を上げを示している。さらに、エノキサパリンはSIN-1の栄養的效果を強化する。

【0032】

本発明は、運動ニューロンの生存および／または成長に有用である医薬品を調製するための低分子量ヘパリンの使用に関する。

【0033】

また本発明は、運動ニューロン疾患、特に筋萎縮性側索硬化症、進行性脊髄性筋萎縮症、小児筋萎縮症および原発性側索硬化症の予防および／または処置に有用な医薬品を調製するための低分子量ヘパリンの使用に関する。

【0034】

医薬品は、塩（好ましくはナトリウムまたはカルシウム）、または塩が任意の

他の医薬的に適合性の生成物（これは不活性であるか、または生理学的に活性であり得る）と組み合わせられた組成物状態の低分子量ヘパリンから成る。本発明の医薬品は静脈内に、皮下に、経口に、直腸に、局所的に、または肺の経路を介して使用することができる。

【0035】

静脈または皮下投与のための滅菌組成物は、一般に水溶液である。これらの組成物は補助剤、特に湿潤剤、張性調節剤、乳化剤、沈殿防止剤および安定化剤を含んでもよい。滅菌は幾つかの方法、例えば無菌濾過により、滅菌剤を組成物中に包含することにより、または照射により行うことができる。組成物はまた使用時に滅菌水に、または任意の他の注入可能な滅菌媒質に溶解し得る滅菌固体組成物の状態で調製することもできる。

【0036】

経口投与用の固体組成物として、錠剤、ピル、粉剤（ゼラチンカプセル、カシエ剤）または粒剤を使用することが可能である。このような組成物において、有効成分を、澱粉、セルロース、シュクロース、ラクトースまたはシリカのような1以上の不活性な希釈剤と、アルゴン流下で混合する。このような組成物は希釈剤以外の物質、例えばステアリン酸マグネシウムまたはタルクのような1以上の潤滑剤、経口吸収を促進する薬剤、着色剤、コーティング（糖衣）またはワニスを含んで成ることができる。

【0037】

経口投与用の液体組成物として、水、エタノール、グリセロール、植物油またはパラフィン油のような不活性希釈剤を含有する医薬的に許容され得る溶剤、懸濁剤、乳剤、シロップおよびエリキシルを使用することが可能である。このような組成物は、希釈剤以外の物質、例えば湿潤剤、甘味料、粘性付与剤、香料または安定化剤を含んで成ることができる。

【0038】

直腸投与用の組成物は、活性生成物の外にカカオ脂、半-合成グリセリドまたはポリエチレングリコールのような賦形剤を含む坐薬または直腸用カプセルである。

【0039】

局所投与用の組成物は、例えばクリーム、ローション、洗眼剤、咽頭スプレー、点鼻剤またはエアゾールであり得る。

【0040】

用量は望まれる効果、処置の期間および使用する投与経路に依存する；それらは一般に皮下に一日あたり1kgあたり0.2mgから4mgの間、すなわち成人では1日あたり14~280mgである。

【0041】

一般的に、医師は年齢、体重および処置する個体に対して具体的な他のすべての因子に関連して適切な用量を決定する。

【0042】

本発明は、運動ニューロンの生存および成長のための方法に関し、この方法は患者に低分子量ヘパリンを投与することから成る。

【0043】

また本発明は、運動ニューロン疾患、特に筋萎縮性側索硬化症、進行性脊髄性筋萎縮症、小児筋萎縮症および原発性側索硬化症を予防および／または処置する方法に関し、この方法は低分子量ヘパリンを患者に投与することから成る。

【0044】

また本発明は、運動ニューロンの生存および／または成長、そして特に運動ニューロン疾患、特に筋萎縮性側索硬化症、進行性脊髄性筋萎縮症、小児筋萎縮症および原発性側索硬化症の予防および／または処置に有用な医薬品の調製法に関し、この方法は、低分子量のエンドウのヘパリンを、1以上の適合性があり、しかも医薬的に許容され得る希釈剤および／または補助剤と混合することから成る。

。

【手続補正書】特許協力条約第34条補正の翻訳文提出書

【提出日】平成12年12月7日(2000.12.7)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 運動ニューロンの生存および／または成長に有用である医薬品を調製するための低分子量ヘパリンの使用。

【請求項2】 運動ニューロン疾患を予防および／または処置するための医薬品を調製するための請求項1に記載の低分子量ヘパリンの使用。

【請求項3】 筋萎縮性側索硬化症、進行性脊髄性筋萎縮症、小児筋萎縮症および外側硬化症を予防および／または処置するための請求項2に記載の使用。

【請求項4】 低分子量ヘパリンが1 000から10 000ダルトンの間の平均分子量を有する請求項1ないし3のいずれか1項に記載の使用。

【請求項5】 低分子量ヘパリンが1 500から6 000ダルトンの間の平均分子量を有する請求項1ないし3のいずれか1項に記載の使用。

【請求項6】 低分子量ヘパリンが4 000から5 000ダルトンの間の平均分子量を有する請求項1ないし3のいずれか1項に記載の使用。

【請求項7】 低分子量ヘパリンがそれら1末端に2-O-スルホ-4-エノピラノスロン酸を有するオリゴ糖から成る、請求項1ないし6のいずれか1項に記載の使用。

【請求項8】 低分子量ヘパリンが、塩基を使用したヘパリンエステルの脱重合により得られる、請求項1ないし7のいずれか1項に記載の使用。

【請求項9】 低分子量ヘパリンがエノキサパリンである、請求項1ないし8のいずれか1項に記載の使用。

【請求項10】 低分子量ヘパリンがナドロパリンである、請求項1ないし6のいずれか1項に記載の使用。

【請求項11】 低分子量ヘパリンがパルナパリンである、請求項1ないし6のいずれか1項に記載の使用。

【請求項12】 低分子量ヘパリンがレビパリンである、請求項1ないし6のいずれか1項に記載の使用。

【請求項13】 低分子量ヘパリンがダルテパリンである、請求項1ないし7のいずれか1項に記載の使用。

【請求項14】 低分子量ヘパリンがチンザパリンである、請求項1ないし6のいずれか1項に記載の使用。

【請求項15】 低分子量ヘパリンがダナパロイドである、請求項1ないし6のいずれか1項に記載の使用。

【請求項16】 低分子量ヘパリンがアルデパリンである、請求項1ないし6のいずれか1項に記載の使用。

【請求項17】 低分子量ヘパリンがセルトパリンである、請求項1ないし6のいずれか1項に記載の使用。

【請求項18】 低分子量ヘパリンがCY222である、請求項1ないし6のいずれか1項に記載の使用。

【請求項19】 低分子量ヘパリンがSR90107/ORG31540である、請求項1ないし6のいずれか1項に記載の使用。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/FR 99/03109

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K31/727 A61P25/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	C. HOPF ET AL.: "Heparin inhibits acetylcholine receptor aggregation at two distinct steps in thre agrin-induced pathway." EUR. J. NEUROSCI., vol. 9, no. 6, 1997, pages 1170-1177, XP002112401	
A	T.H. OH ET AL.: "A muscle derived substrate-bound factor that promotes neurite outgrowth from neurons of the central and peripheral nervous systems." DEV. BIOL., vol. 127, no. 1, 1988, pages 88-98, XP002112402	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principles or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

22 May 2000

Date of mailing of the international search report

06/06/2000

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P.B. 5010 Patentlaan 2
NL - 2220 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040, Tx 31 651 epc nl,
Fax: (+31-70) 340-3018

Authorized officer

Bonzano, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. J. Appl. Application No.
PCT/FR 99/03109

G.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 91 06303 A (UNIV CASE WESTERN RESERVE ;GLIATECH INC (US)) 16 May 1991 (1991-05-16) abstract page 23, line 5 - line 20 page 9, paragraph 3 -page 11, paragraph 2 claims 116-118,131-133 -----	1-4,7-19
A	"the merck index" 1996, MERCK & CO. XP002138267 paragraph '4685! -----	1-4,7-19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/FR 99/03109

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9106303 A	16-05-1991	AI 6872691 A	31-05-1991
		CA 2071898 A	28-04-1991
		EP 0493533 A	08-07-1992

フロントページの続き

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AL, AU, BA, BB, BG, BR, CA, CN, CR, CU, CZ, DM, EE, GD, GE, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KP, KR, LC, LK, LR, LT, LV, MA, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, SL, TR, TT, UA, US, UZ, VN, YU, ZA

Fターム(参考) 4C086 AA01 AA02 EA27 MA01 MA04
NA14 ZA02 ZB21
4C090 AA09 BA68 BB17 BB22 BB55
DA23